

L4 ANSWER 6 OF 6 CAPLUS COPYRIGHT 2003 ACS on STN
 AN 2001:260199 CAPLUS
 DN 134:256945
 TI Biocompatible **titanium implants** and **cell**
 culture substrates with calcium-containing surface and their production
 IN Berger, Georg; Willfahrt, Manfred
 PA Bam Bundesanstalt Fuer Materialforschung Und -Pruefung, Germany
 SO Ger., 10 pp.
 CODEN: GWXXAW
 DT Patent
 LA German
 FAN.CNT 1

	PATENT NO.	KIND	DATE	APPLICATION NO.	DATE
	-----	----	-----	-----	-----
PI	DE 19944970	C1	20010412	DE 1999-19944970	19990914
PRAI	DE 1999-19944970		19990914		

AB The invention concerns **titanium** or **titanium** alloy
implants and **cell** culture substrates that are prepd. by
 treating the metal with calcium nitrate at 560.degree.C for up-to 1500
 min; the obtained biocompatible material can be used as an **implant**
 or treated with **phosphoric acid** soln. below
 90.degree.C, followed by heat treatment at 150-750.degree.C. The
titanium with calcium phosphate surface is used as **implant**
 or **cell** culture substrate.

RE.CNT 3 THERE ARE 3 CITED REFERENCES AVAILABLE FOR THIS RECORD
 ALL CITATIONS AVAILABLE IN THE RE FORMAT



①9 **BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND**



**DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT**

⑫ **Pat ntschrift**
⑩ **DE 199 44 970 C 1**

⑤① Int. Cl.⁷:
A 61 L 27/00
A 61 L 27/06
A 61 L 27/30

⑦① Aktenzeichen: 199 44 970.8-45
⑦② Anmeldetag: 14. 9. 1999
⑦③ Offenlegungstag: -
⑦④ Veröffentlichungstag
der Patenterteilung: 12. 4. 2001

DE 199 44 970 C 1

Innerhalb von 3 Monaten nach Veröffentlichung der Erteilung kann Einspruch erhoben werden

⑦③ **Patentinhaber:**
BAM Bundesanstalt für Materialforschung und
-prüfung, 12205 Berlin, DE

⑦④ **Vertreter:**
PFENNING MEINIG & PARTNER GbR, 10707 Berlin

⑦② **Erfinder:**
Berger, Georg, 16341 Zepernick, DE; Willfahrt,
Manfred, 10115 Berlin, DE

⑤⑥ **Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht
gezogene Druckschriften:**
DE 37 09 457 C2
DE 28 24 063 C2
US 54 78 237 A

⑤④ **Verfahren zur Herstellung eines Implantats oder Substrats mit biokompatibler Oberfläche**

⑤⑦ Es wird ein Verfahren zur Herstellung eines Implantats oder Substrats aus Titan oder einer Titanlegierung mit einer calciumhaltigen biokompatiblen Oberflächenschicht beschrieben, bei dem der metallische Körper zur Erzeugung der biokompatiblen Oberflächenschicht mit einer Calciumsalz-Schmelze behandelt wird. Die biokompatible Oberflächenschicht kann danach mit einem phosphorhaltigen Medium behandelt werden, um eine calciumphosphathaltige Schicht zu erzeugen. Alternativ kann das Implantat mit der darauf gebildeten biokompatiblen Oberflächenschicht direkt in den Knochen eines menschlichen Körpers implantiert werden, wobei sich eine calciumphosphathaltige Schicht aus dem in der biokompatiblen Oberflächenschicht enthaltenen Calcium und dem in den Körperflüssigkeiten enthaltenen Phosphatanionen bildet. Nach diesem Verfahren hergestellte Substrate können mit Vorteil in der Biotechnologie zur Zellzüchtung eingesetzt werden, gegebenenfalls nach weiterer Modifizierung der Oberfläche, die jedoch nicht Gegenstand des vorliegenden Verfahrens ist.

DE 199 44 970 C 1

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung eines Implantats oder Substrats aus Titan oder einer Titanlegierung mit einer calciumhaltigen biokompatiblen Oberflächenschicht.

Es ist bekannt, insbesondere als Knochenersatz dienende Implantate für den menschlichen Körper, welche aus Titan oder einer Titanlegierung bestehen, mit einer Calciumphosphatschicht zu überziehen, da diese Substanz mit dem Knochenmaterial, das selbst im Wesentlichen aus einem Calciumphosphat, nämlich Hydroxylapatit besteht, kompatibel ist und eine feste Haftung des Implantats in der Knochen-substanz gewährleistet.

Derartige Calciumphosphatschichten wurden üblicherweise durch thermische Spritzverfahren in verschiedenen Varianten, beispielsweise Plasmaspritzen, Hochgeschwindigkeitsspritzen, Vakuumplasmaspritzen und dergleichen aufgebracht, wobei Schichtdicken zwischen 50 und 500 µm erhalten wurden. Diese Schichten sind in der Regel sehr porös und ihre chemische Beständigkeit ist aus diesem Grunde um ein Vielfaches geringer als die des kompakten Ausgangsmaterials. Auch die Haftung dieser Schichten ist verbesserungswürdig.

Das CVD-Verfahren hat sich bei den besonders interessierenden Hydroxylapatit-Schichten nicht bewährt, da im Verfahrensprozess chemische Reaktionen auch zu anderen Schichtsubstanzen, die von Hydroxylapatit stark abweichen, führen. Das Gleiche gilt für das Beschichten mit gepulsten Laserstrahlen. Es wurde gefunden, daß vielfach $\text{Ca}(\text{OH})_2$ als unerwünschter Nebenbestandteil erzeugt wird.

Bei einem bekannten chemischen Verfahren, das als biomimetisches Verfahren bezeichnet wird, wird ein Titanimplantat mit NaOH in wässriger Lösung behandelt und im Anschluß daran getempert. Sodann wird das auf diese Weise vorbehandelte Implantat einem Auslaugungsprozess in einer SBF-Lösung (simulated body fluid = simulierte Körperflüssigkeit) unterzogen. Diese quasi gesättigte CaP-Lösung führt durch Ionenaustausch zwischen den zuvor eingebrachten Natriumionen und den Calciumionen sowie den Phosphatanionen der Lösung zu einer Hydroxylapatit-Schicht im nahen Oberflächenbereich. Es werden Schichtdicken zwischen ca. 0,75 µm und ca. 2 µm angegeben.

Aus der DE 196 01 153 A1 ist ein Verfahren zum Aufbringen von bioaktiven Phosphatschichten auf metallische Implantate bekannt, bei dem die Abscheidung der Phosphate aus flüssigen, vorzugsweise wässrigen Phosphatlösungen auf elektrolytischem Weg durch Wechselstrom oder Gleichstrom erfolgt.

Die DE 43 11 772 A1 beschreibt ein Verfahren zur Herstellung von gewebefreundlichen Implantaten, die aus mindestens 98 Gew.-% Titan enthaltenden Metallen, aus Titan und/oder titanhaltigen Mikrolegierungen bestehen. Nach einem chemischen oder elektrochemischen Ätzen erfolgt das Aufbringen eines biokompatiblen Schutzüberzugs auf die Metalloberfläche mittels anodischer Oxidation in einer wässrigen Phosphatlösung, die gegebenenfalls auch bioaktive Komponenten enthält. Danach erfolgt eine Wärmebehandlung zwecks Umwandlung der zuvor gewonnenen amorphen Oxidschichten in kristallines TiO_2 (Rutil).

Die DE 37 09 457 C2 offenbart einen mit einer Calciumphosphatverbindung überzogenen Titanverbundwerkstoff, der als Knochaimplantat verwendbar ist. Die Calciumphosphatverbindung besteht aus einer Grundschrift, die aus der Calcinierung einer wässrigen Chlorwasserstoffsäure- oder Salzpetersäurelösung der Calciumphosphatverbindung resultiert und einer Abdeckschicht, die durch Sintern einer Suspension der Calciumphosphatverbindung gebildet ist,

die auf die Grundschrift aufgebracht wurde. Das Verfahren zur Herstellung dieser Calciumphosphatverbindung ist sehr aufwendig.

Aus der DE 28 24 063 C2 ist eine Gelenkendoprothese aus Metall bekannt, bei der zumindest eine der zusammenwirkenden Flächen mit einer Beschichtung versehen ist, die Platin, Ruthenium oder Iridium oder eine Legierung mit zumindest einem dieser Metalle enthält. Weiterhin kann die Beschichtung Palladium, Rhodium, Gold, Kupfer, Eisen, Nickel Kobalt, Wolfram und/oder Molybdän als weiteren Legierungsbestandteil enthalten. Die Herstellung dieser Prothese kann mittels eines Salzschnmelzverfahrens erfolgen, indem die zu beschichtende Prothese als Kathode in einem Elektrolyt eingetaucht und elektroplattiert wird, wobei entweder eine Verbrauchs-Anode aus einem Material der Beschichtung benutzt wird oder eine in dem Elektrolyten unlösliche Anode benutzt und das Beschichtungsmaterial als ein Salz in den Elektrolyten eingegeben wird. Als Elektrolyt wird vorzugsweise eine elektrische Salzmischung mit 53 V/V% Natriumzyanid und 47 V/V% Kaliumzyanid verwendet.

Schließlich wird in der US 5 478 237 A ein Verfahren eines Implantats beschrieben, bei dem ein Basiskörper, bei dem zumindest die Oberfläche aus Titan oder einer Titanlegierung besteht, in einer Elektrolytlösung enthaltend Ca-Ionen und P-Ionen einer anodischen Oxidation unterzogen wird, um einen anodischen Oxidationsfilm auf dem Basiskörper zu bilden, und dann der anodisch oxidierte Basiskörper einer hydrothermischen Behandlung in Hochdruckdampf unterzogen wird, wodurch eine Calciumphosphatverbindung auf dem anodischen Oxidationsfilm niedergeschlagen wird. Die Elektrolytlösung enthält als Hauptbestandteile vorzugsweise Glycerinphosphat und ein Calciumsalz.

Es ist die Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein Verfahren zur Herstellung eines Implantats oder Substrats aus Titan oder einer Titanlegierung mit calciumhaltiger biokompatibler Oberfläche anzugeben, durch das mit einfachen Mitteln eine relative dicke TiO_2 -Schutzschicht direkt auf dem Titan oder der Titanlegierung und darüber die calciumhaltige biokompatible Oberflächenschicht erhalten werden können, wobei die biokompatible Oberflächenschicht durch Behandlung mit einem phosphorhaltigen Medium in eine relativ dicke und dichte calciumphosphathaltige Schicht weitgehend ohne unerwünschte Nebenbestandteile umgewandelt werden kann.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß gelöst durch die im kennzeichnenden Teil des Anspruchs 1 angegebenen Merkmale. Vorteilhafte Weiterbildungen des erfindungsgemäßen Verfahrens ergeben sich aus den Unteransprüchen.

Dadurch, daß das Implantat – hierunter wird ein in vivo eingebrachtes Werkstück verstanden – oder das Substrat – hierunter wird eine ex vivo zum Beispiel für die Zellzüchtung in der Biotechnologie bzw. Tissue Engineering (Gewebezüchtung) angewendete (Zell-) Unterlage verstanden – zur Erzeugung der biokompatiblen Oberflächenschicht mit einer Calciumsalz-Schmelze behandelt wird, werden eine Calciumangereicherte vorgelagerte Schicht erzeugt und die nachgelagerte TiO_2 -Schicht verstärkt. Die nachgelagerte TiO_2 -Schicht ist dabei für sich genommen bereits dicker als eine TiO_2 -Schicht, die bei einer Behandlung des Implantats oder Substrats bei gleicher Temperatur und Dauer an Luft ohne Verwendung der Salzschnmelze entstehen würde.

Die Temperatur der Salzschnmelze liegt während der Behandlung vorzugsweise unter 750°C, da die Phasenumwandlungstemperatur des Titans bzw. der Titanlegierung nicht überschritten werden darf.

Das verwendete Calciumsalz ist vorzugsweise sauerstoffhaltig, woraus sich der Umstand erklären läßt, daß bei der

Behandlung mit der Calciumsalz-Schmelze die Dicke der TiO_2 -Schicht in unerwartetem Maße zunimmt. Als ein geeignetes Calciumsalz hat sich Calciumnitrat erwiesen. Mit diesem wurden gute Ergebnisse bei einer Behandlungstemperatur von etwa 560°C und einer Behandlungsdauer von etwa vier Stunden erzielt. Die Behandlungszeit kann zwischen 10 Minuten und 1500 Minuten liegen.

Nach der Behandlung mit der Calciumsalz-Schmelze wird die biokompatible Oberfläche vorzugsweise mit einem phosphorhaltigen Medium behandelt, um eine calciumphosphathaltige Schicht herzustellen. Als phosphorhaltige Medien werden vorteilhaft eine simulierte Körperflüssigkeit nach (SBF after) Kokubo, eine Lösung nach Hank (Hank's Balanced Salt Solution) oder ein Phosphorsäure/Wasser-Gemisch verwendet. Die Behandlung erfolgt zweckmäßig durch Eintauchen des Substrats in das phosphorhaltige Medium, das zweckmäßig auf eine Temperatur unterhalb von 90°C erwärmt ist.

Nach der Bildung der calciumphosphathaltigen Schicht kann diese noch getempert werden, wodurch die Bindung zwischen den verschiedenen Schichten noch verstärkt wird. Die Temperung kann bei einer Temperatur zwischen 150°C und 750°C während einer Dauer im Bereich zwischen 15 Minuten und 600 Minuten durchgeführt werden.

Das so erhaltene fertige Implantat kann in den menschlichen Körper eingesetzt werden.

Alternativ zur Behandlung mit dem phosphorhaltigen Medium kann das Implantat bereits nach der Behandlung mit der Calciumsalz-Schmelze in den menschlichen Körper implantiert werden. Die Calciumionen und (Ortho-) Phosphationen enthaltende interstitielle Körperflüssigkeit bzw. das umgebende Blut übernimmt dann die Funktion des phosphorhaltigen Mediums, so daß die calciumhaltige Schicht mittels des in den Körperflüssigkeiten enthaltenen Phosphatanteils in eine calciumphosphathaltige Schicht umgewandelt wird.

Das durch das erfindungsgemäße Verfahren erhaltene Implantat oder Substrat ist nicht nur als Knochenersatzimplantat verwendbar, sondern beispielsweise als Halbzeug mit calciumreichem Hintergrund, auf das Calciumphosphat-Schichten durch Plasmaspritzen aufgebracht werden. Weitere Verwendungsmöglichkeiten bestehen in der Biotechnologie als Substrat zur Zellzüchtung in Bioreaktoren bzw. als Halbzeuge zur weiteren Oberflächenmodifizierung und Anpassung an konkrete Zellarten.

Die Erfindung wird im Folgenden anhand eines in den Figuren dargestellten Ausführungsbeispiels näher beschrieben. Es zeigen:

Fig. 1 bis 4 die durch die Auger-Spektroskopie ermittelten Konzentrationen von Titan ($\text{Ti}2$), Sauerstoff ($\text{O}1$), Calcium ($\text{Ca}1$), Phosphor ($\text{P}1$) und Kohlenstoff ($\text{C}1$) in Abhängigkeit von der Entfernung von der Oberfläche bei Proben in unterschiedlichen Verfahrensstadien, und

Fig. 5 ein Röntgenspektrum der Probe gemäß Fig. 2.

Die Diagramme in den Fig. 1 bis 4 wurden erhalten, indem die Proben mit Argonatomen beschossen wurden, so daß das Probenmaterial verdampfte. Die Stelle, an der das Material verdampfte, bewegte sich ausgehend von der Oberfläche mit einer Geschwindigkeit von ca. 35 nm/min in das Probenmaterial hinein, so daß die auf der Abszisse angegebenen Zeitwerte bestimmten Abständen von der Probenoberfläche entsprechen. Das verdampfte Material wurde mittels der Auger-Spektroskopie analysiert, wobei die Ordinate in den Fig. 1 bis 4 die Anzahl der gezählten Impulse bzw. die Konzentrationen der im verdampften Material enthaltenen Elemente wiedergibt.

Fig. 1 zeigt den Konzentrationsverlauf von Titan und Sauerstoff in Abhängigkeit vom Abstand von der Oberflä-

che bei unbehandeltem, d. h. bei Raumtemperatur in Luft an der Oberfläche oxidiertem Titan (die in den Fig. 1 bis 4 gezeigten C1-Kurven können außer Betracht bleiben).

Fig. 2 stellt den Konzentrationsverlauf von Titan, Sauerstoff und Calcium nach der Behandlung des Substrats mit einer Calciumnitrat-Schmelze bei 560°C und einer Dauer von vier Stunden dar. Es ist nicht nur ersichtlich, daß das Substrat an der Oberfläche Calcium enthält, sondern auch, daß der Sauerstoffgehalt im Vergleich zum Calciumgehalt beträchtlich angestiegen ist, d. h. die TiO_2 -Schicht erheblich verstärkt wurde.

Fig. 3 gibt die Konzentrationen von Titan, Sauerstoff, Calcium und Phosphor der in Fig. 2 gezeigten Probe nach der zusätzlichen Behandlung mit einer phosphorhaltigen simulierten Körperflüssigkeit wieder. Bei dieser Behandlung bilden sich zunächst röntgenamorphe Calciumphosphat-schichten. Entsprechend dem Phosphor-Gehalt können sich Calciumdiphosphat, Tricalciumphosphat und Hydroxylapatit ausbilden. Da von diesen Calciumdiphosphat den höchsten prozentualen Phosphoranteil besitzt, wird angenommen, daß sich dieses im Wesentlichen direkt an der Oberfläche bildet, während die darunter liegenden Schichten überwiegend aus Tricalciumphosphat und Hydroxylapatit bestehen, welche eine engere Beziehung zur Knochensubstanz besitzen.

Fig. 4 zeigt die Konzentration von Titan und Sauerstoff an der Oberfläche einer Probe aus Titan, die während einer Dauer von vier Stunden bei 560°C der Luft ausgesetzt war. Wie der Vergleich mit Fig. 2 zeigt, ist die TiO_2 -Schicht nach der Behandlung in der Salzsäure bedeutend dicker als nach einer entsprechenden Behandlung in Luft. Dies ist eine überraschende vorteilhafte Wirkung des erfindungsgemäßen Verfahrens.

Fig. 5 gibt ein Röntgenspektrum für die Probe nach Fig. 2, d. h. daß während einer Dauer von vier Stunden bei 560°C mit einer Calciumnitrat-Schmelze behandelte Titan-substrat wieder. Wie dieses Spektrum zeigt, finden sich deutliche Röntgenreflexe für Titan, Titanoxid (hier als Rutil) und Calciumtitanat ($\text{Ca}_4\text{Ti}_3\text{O}_{10}$), das durch Reaktion zwischen TiO_2 und Ca-Ionen entsteht.

Die Gesamtdicke der durch das beschriebene Verfahren erfaßten Schichten beträgt im vorliegenden Beispiel etwa 2 bis $2,9\text{ }\mu\text{m}$, wobei die calciumhaltige Schicht eine Dicke im Bereich zwischen $1,7$ und $2,4\text{ }\mu\text{m}$ aufweist.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung eines Implantats oder Substrats aus Titan oder einer Titanlegierung mit einer calciumhaltigen biokompatiblen Oberflächenschicht, **dadurch gekennzeichnet**, daß das Implantat oder Substrat zur Erzeugung der biokompatiblen Oberflächenschicht mit einer Calciumsalz-Schmelze behandelt wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Temperatur der Calciumsalz-Schmelze unterhalb 750°C liegt.
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Dauer der Behandlung im Bereich zwischen 10 und 1500 Minuten liegt.
4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß das Calciumsalz sauerstoffhaltig ist.
5. Verfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß als Calciumsalz Calciumnitrat verwendet wird.
6. Verfahren nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß die Temperatur der Calciumnitrat-Schmelze etwa 560°C beträgt.

7. Verfahren nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß die Dauer der Behandlung mit der Calciumnitrat-Schmelze vier bis zwölf, vorzugsweise vier Stunden beträgt.
8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß die biokompatible Oberfläche mit einem phosphorhaltigen Medium zur Erzeugung einer calciumphosphathaltigen Schicht behandelt wird.
9. Verfahren nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß das phosphorhaltige Medium eine simulierte Körperflüssigkeit oder ein Phosphorsäure/Wasser-Gemisch ist.
10. Verfahren nach Anspruch 8 oder 9, dadurch gekennzeichnet, daß das phosphorhaltige Medium auf eine Temperatur $<90^{\circ}\text{C}$ erwärmt wird.
11. Verfahren nach einem der Ansprüche 8 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß die calciumphosphathaltige Schicht getempert wird.
12. Verfahren nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß die Temperung bei einer Temperatur im Bereich von 150°C bis 750°C durchgeführt wird.
13. Verfahren nach Anspruch 11 oder 12, dadurch gekennzeichnet, daß die Dauer der Temperung im Bereich von 15 Minuten bis 600 Minuten liegt.
14. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 13, dadurch gekennzeichnet, daß das Substrat ex vivo in der Biotechnologie, vorzugsweise zur Zellzüchtung eingesetzt wird.

Hierzu 5 Seite(n) Zeichnungen

30

35

40

45

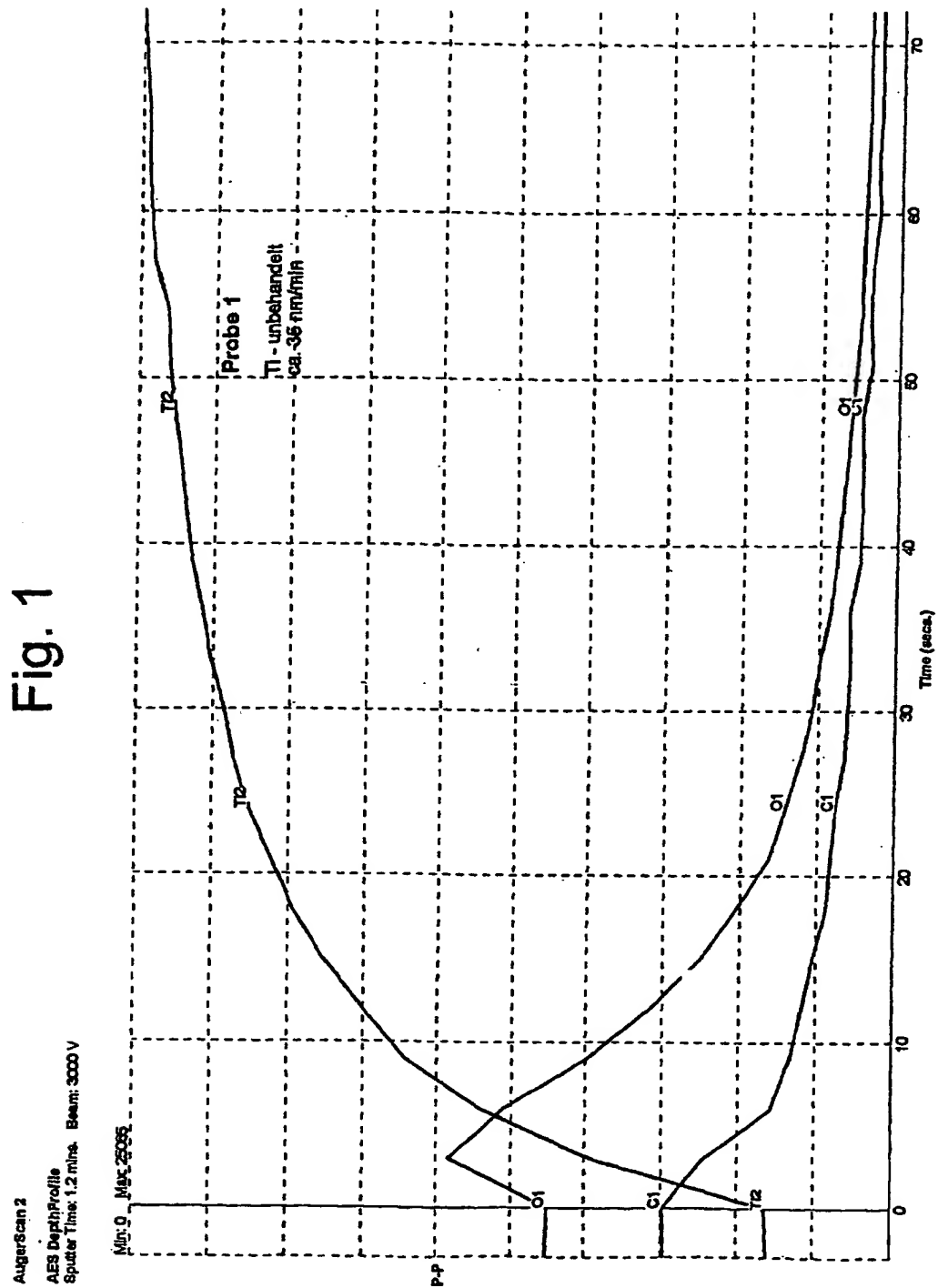
50

55

60

65

- Leerseite -



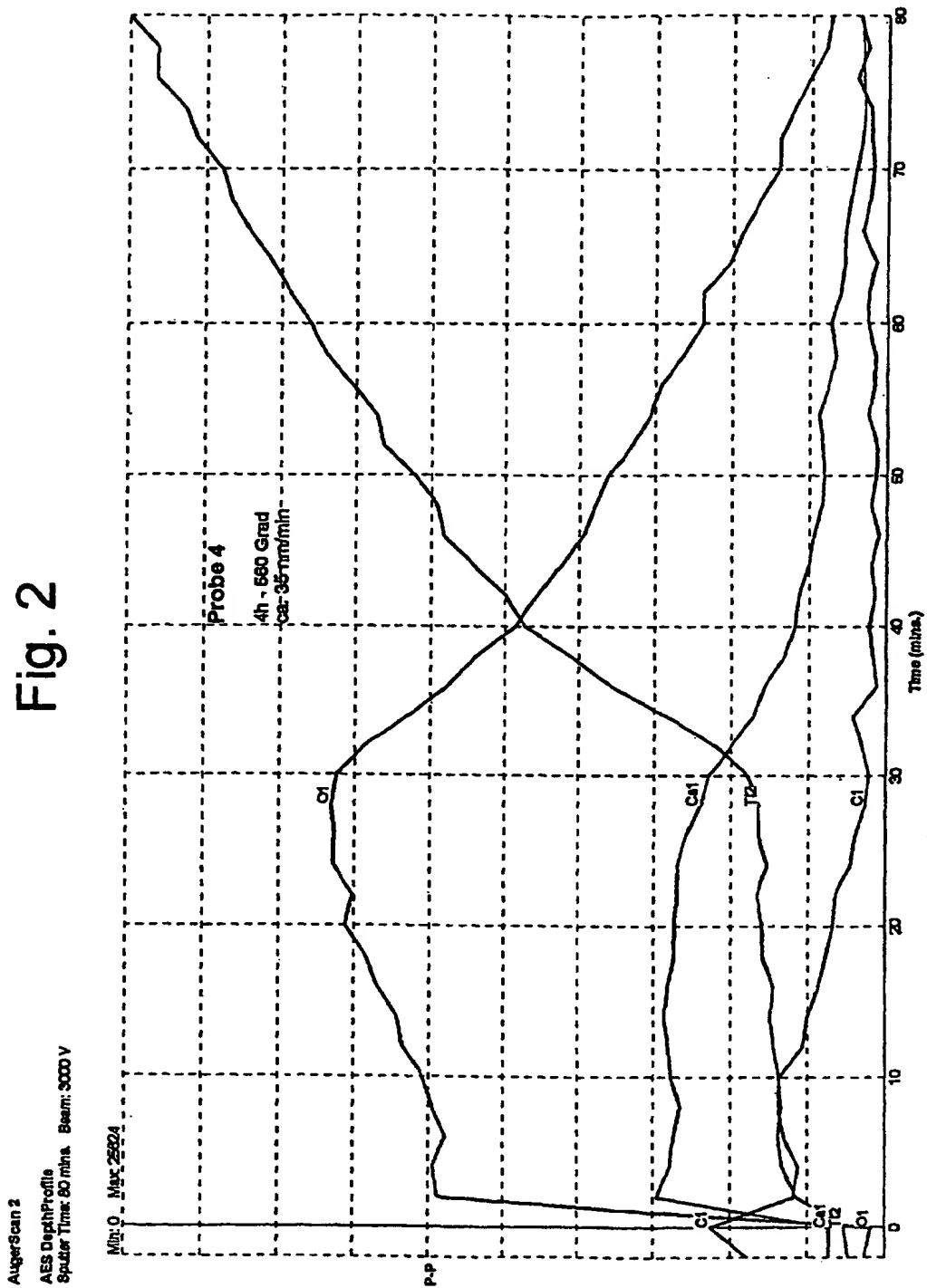


Fig. 3

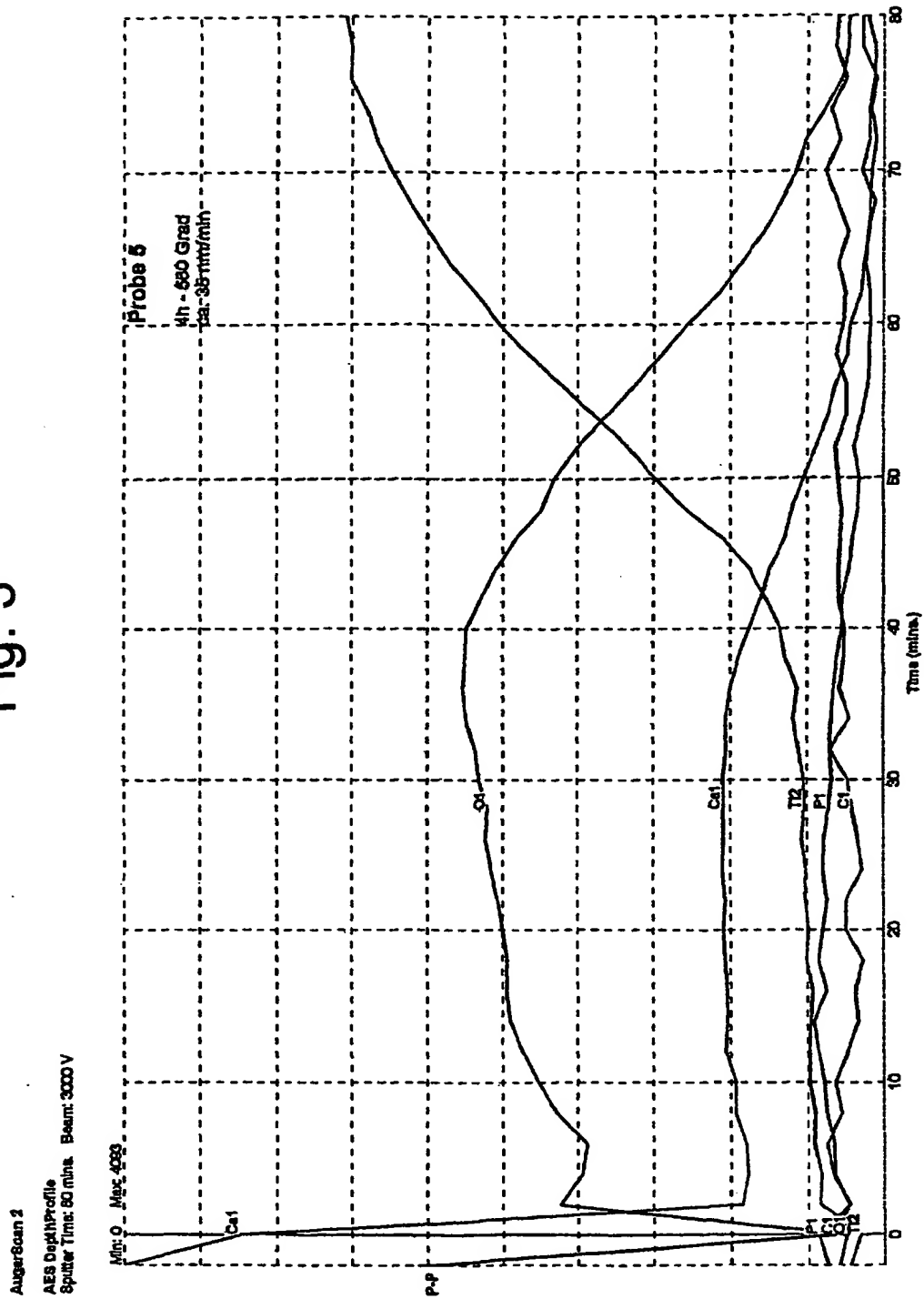


Fig. 4

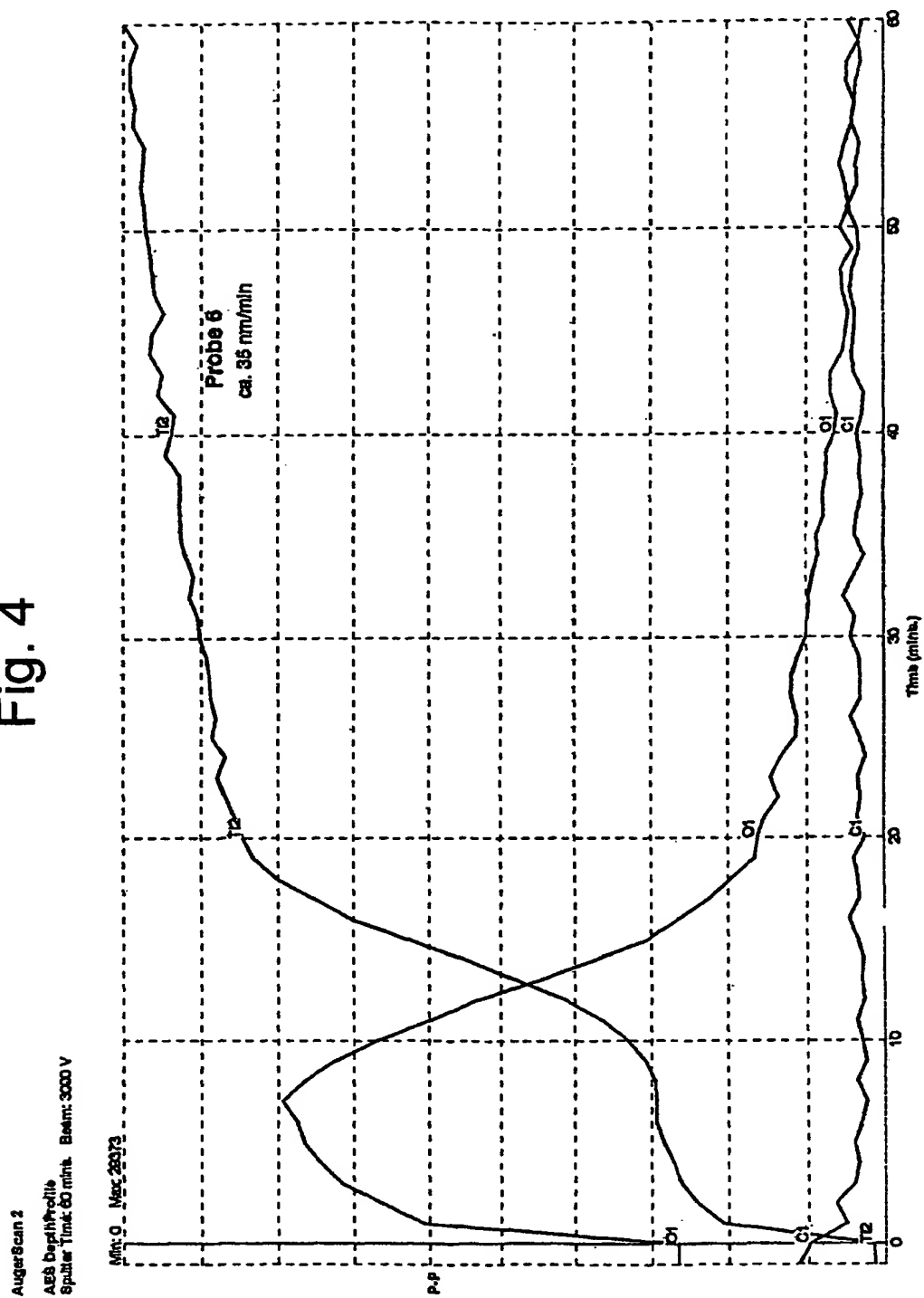


Fig. 5

